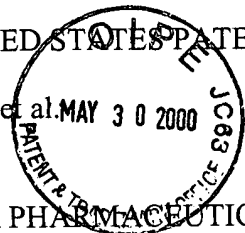


1623

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant : Feng-Nien Ko et al.
 Serial No. : 09/522,434
 Filed : March 9, 2000
 Title : ANTI-ULCER PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND THE PREPARATION THEREOF



Art Unit : Unknown
 Examiner : Unknown

#2
 Priority
 Doc
 6/17/00

Commissioner of Patents
 Washington, D.C. 20231

TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT UNDER 35 USC § 119

Applicants hereby confirm his claim of priority under 35 USC § 119 from Taiwan Application No. 89100334 filed January 11, 2000. A certified copy of the application from which priority is claimed is submitted herewith.

Please apply any charges or credits to Deposit Account No. 06-1050.

Respectfully submitted,

Date: 5-26-00

Y. Rocky Tsao
 Y. Rocky Tsao
 Reg. No. 34,053

RECEIVED
 5 26 2000
 TC 1 MAIL ROOM

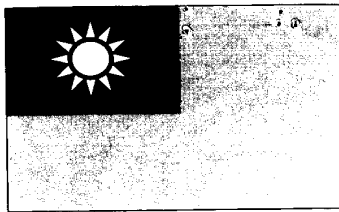
Fish & Richardson P.C.
 225 Franklin Street
 Boston, MA 02110-2804
 Telephone: (617) 542-5070
 Facsimile: (617) 542-8906

20054949.doc

CERTIFICATE OF MAILING BY FIRST CLASS MAIL

I hereby certify under 37 CFR §1.8(a) that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service as first class mail with sufficient postage on the date indicated below and is addressed to the Commissioner of Patents, Washington, D.C. 20231.

May 26, 2000
 Date of Deposit
Diane M. Saturno
 Signature
Diane M. Saturno
 Typed or Printed Name of Person Signing Certificate



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this
office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申請日：西元 2000 年 01 月 11 日
Application Date

申請案號：089100334
Application No.

申請人：財團法人製藥工業技術發展中心
Applicant(s)

局長
Director General

陳明邦

發文日期：西元 2000 年 5 月 09 日
Issue Date

發文字號：08911006412
Serial No.

申請日期：

案號：89100334

類別：

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中文	抗潰瘍醫藥組成物、其製法及用途
	英文	
二、 發明人	姓名 (中文)	1. 柯逢年 2. 石謙仁 3. 林哲毅 4. 吳珮琪
	姓名 (英文)	1. Feng-Nien Ko 2. Chien-Jen Shin 3. Je-Yie Lin 4. Pey-Chyi Wu
	國籍	1. 中華民國 2. 中華民國 3. 中華民國 4. 中華民國
	住、居所	1. 台北市三福街9巷11號4樓 2. 台北市承德路三段14號4樓 3. 台北縣汐止市福德一路39巷3弄3號6樓 4. 台北市萬盛街146巷9號1樓
三、 申請人	姓名 (名稱) (中文)	1. 財團法人製藥工業技術發展中心
	姓名 (名稱) (英文)	1.
	國籍	1. 中華民國
	住、居所 (事務所)	1. 北縣汐止市康寧街169巷101號5樓
	代表人 姓名 (中文)	1. 蔡幸作
	代表人 姓名 (英文)	1.



RECEIVED
JUN-2 2000
TC 1650 MAIL ROOM

申請日期：	案號：
類別：	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	
	英 文	
二、 發明人	姓 名 (中文)	5. 鄭模池
	姓 名 (英文)	5. Mo-Chi Cheng
	國 籍	5. 中華民國
	住、居所	5. 台北市木新路二段79巷6弄6號
三、 申請人	姓 名 (名稱) (中文)	
	姓 名 (名稱) (英文)	
	國 籍	
	住、居所 (事務所)	
	代表人 姓 名 (中文)	
	代表人 姓 名 (英文)	



四、中文發明摘要 (發明之名稱：抗潰瘍醫藥組成物、其製法及用途)

本發明揭露一種用於預防及/或治療消化性潰瘍的醫藥組成物及其製法，此醫藥組成物包括花旗參或其萃取物，係將花旗參以水或含酒精的水溶液萃取，萃取液經由超過濾、透析、酒精沉澱或逆相色層層析法處理，而得到具抗消化性潰瘍活性之萃取物。

英文發明摘要 (發明之名稱：)



本案已向

國(地區)申請專利

申請日期

案號

主張優先權

無

有關微生物已寄存於

寄存日期

寄存號碼

無

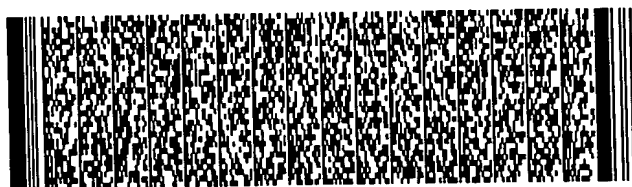
五、發明說明 (1)

發明領域

本發明係有關於一種用於預防及/或治療消化性潰瘍之醫藥組成物，特別是有關於以花旗參或其萃取物作為具抗消化性潰瘍活性成份之醫藥組成物以及其萃取物的製法。

發明背景

花旗參(*Panax quinquefolium* L.)為五加科(Araliaceae)植物，五加科植物中的各種參屬植物，例如：人參、花旗參、三七等，長久以來被華人視為優良之補品，具有多種滋補養生的效果，不論入藥或日常食用均相當普遍。其中人參為中、日、韓等國之傳統貴重藥材。一般而言，人參採收後，品質佳者通常經過高溫蒸氣蒸煮炮製，稱為紅參；而未經炮製者，經乾燥處理後則稱白參或生曬參。而花旗參為多年生草本植物，一般使用以根部為主，狀似人參，但少鬚根或支根，原產於美國與加拿大等北美森林地帶，故稱花旗參或西洋參。由於通常未經炮製，只經乾燥或殺菌處理，市場亦名粉光參，在中藥典籍中則稱洋參。目前所產花旗參多為人工栽培，中國大陸與俄羅斯等地也引種栽植，產量日增。許多文獻顯示花旗參所含成分與人參相似，包括多種人參皂苷(ginseng saponin)、寡糖、揮發油、氨基酸、維生素與多種微量元素，但相對含量則高低不同。一般認為，花旗參與人參均具有增強活力、滋補養生、延年益壽的效果，被視為溫和之補品，為民眾日



五、發明說明 (2)

常常用的食補或藥補之藥材，目前中西市場上均有多種相關之健康食品，顯見其廣為接受與安全溫和。

近年來，許多科學文獻報導進一步證實花旗參確具有多種生理活性，包括抗老化 (Xiao P. G. et. al. 1993, Journal of Ethnopharmacology 38(2-3):167-75；崔晶與陳可冀，1991，中西醫結合雜誌，11(8))、預防動脈硬化與高血脂 (Li J. et. al. 1999, Life Science 64(1):53-62)、保護肝臟 (Yoshikawa M. et. al. 1998, Chemical and Pharmaceutical Bulletin 46(4):647-54)、增強心血管系統功能 (Kwan C. Y. 1995, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology-Supplement 1: S297-9；Yang S. 1992, China Journal of Chinese Material Medica 17(9):555-7；美國專利第4,708,949號)、防止記憶衰退或痴呆 (Benishin C. G. 1991, Pharmacology 42(4):223-9；Li Z. et. al. 1999, Journal of Pharmacy and Pharmacology 51(4):435-40；Lewis R. et. al. 1999, Phytotherapy Research 13(1):59-64；高南南等，1995，中藥藥理與臨床，11(5))、降低高血糖 (Oshima Y. et. al. 1987, Journal of Natural Products 50(2):188-90；Martinez S. and Staba E. J. 1984, Japanese Journal of Pharmacology 35(2):79-85)、抗乳癌 (Duda R. B. et. al. 1996, Annals of Surgical Oncology 3(6):515-20)、增強體力 (陳玉山

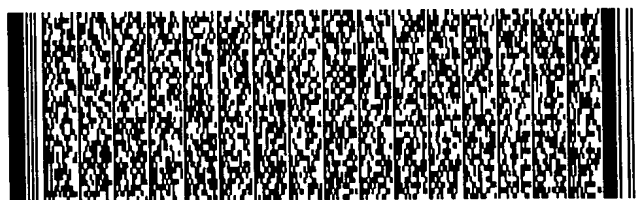


五、發明說明 (3)

等，1991，中草藥，22(5))、抗病毒(美國專利第5,071,839號)、抗氧化(馬春力等，1993，中國藥理學與毒理學雜誌，7(4))、降低癌症化療之副作用(美國專利第4,945,115號)、調控胃之消化作用(Yuan C.S. et. al. 1998, American Journal of Chinese Medicine 26(1):47-55)與增進免疫力(美國專利第4,795,742號)等。

近年來，胃腸疾病發生率有逐漸上升的趨勢，尤其在先進工業國家，由於生活緊張、步調快速、工作壓力升高，消化性潰瘍的發生率未降反升。消化性潰瘍的發生主要有幾種誘因：長期生活壓力、大量酒精刺激、服用藥物(如阿斯匹靈或抗發炎藥)而產生的副作用或幽門螺旋菌感染(*Helicobacter pylori* infection)等。目前主要的治療藥物有毒蕈鹼接受體拮抗劑(muscarinic antagonists)，例如methscopolamine bromide； H_2 拮抗劑(H_2 blockers)，例如cimetidine；制酸劑(antacids)，例如氫氧化鋁或氫氧化鎂；氫鉀交換酶抑制劑(H^+/K^+ ATPase inhibitor)，例如omeprazole；抗菌劑(anti-bacterial drugs)，例如amoxicillin與metronidazole合用。此類藥物主要作用大概可分為兩

種：一是物理性的保護胃壁黏膜，減少胃酸直接對黏膜潰瘍處產生刺激，另一則為化學性的直接抑制胃酸分泌，以避免過多的胃酸侵蝕胃壁黏膜，造成潰瘍。由於消化性潰瘍的發生率高，而覆發的機率亦高，患者常因生活方式變



五、發明說明 (4)

化或季節變動而反覆受消化性潰瘍所苦。因此，此類藥物應安全、溫和與有效，並進一步預防潰瘍生成，以有效解除患者之困擾與不適。

發明摘述

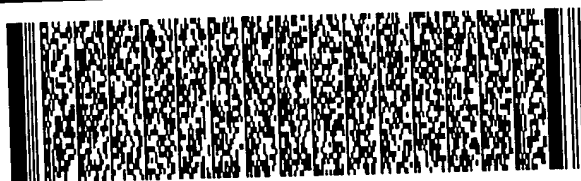
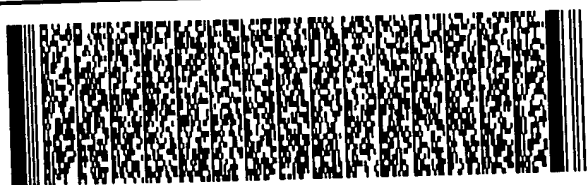
有鑑於此，本發明提供一種用於預防及/或治療消化性潰瘍的醫藥組成物，包括(i)一有效量的花旗參或其萃取物；以及(ii)其生理上或藥學上可接受的載體或賦形劑。

本發明的另一種形態是提供一種具有抗消化性潰瘍活性之花旗參萃取物之製造方法，包括下列步驟：(a)將花旗參以極性度大於0.88的溶劑萃取，得一萃取物；(b)將該萃取物過濾，以得一濾液；以及(c)將該濾液離心取上清液。

本發明之具有抗消化性潰瘍活性之花旗參萃取物之製造方法，更包括將上述步驟(c)之上清液進行超過濾(ultrafiltration)、透析(dialysis)、酒精沉澱或通過一逆相色層層析管柱(reverse phase chromatography)，以得到各種花旗參萃取物。

發明詳述

根據本發明的一種形態，從花旗參抽出具有抗消化性潰瘍活性之萃取物的方法，首先是將花旗參以極性度(polarity E°)大於0.88之溶劑萃取，適合的溶劑包括水、酒精、甲醇或由彼等混合而成之溶液，較佳的是水或酒精，更佳的是10%~80%的酒精水溶液；將萃取物過濾



五、發明說明 (5)

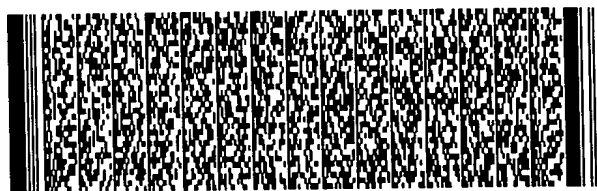
以去除植物殘體，再經離心除去細微殘渣與澱粉碎屑，取上清離心液，濃縮至適當濃度後，藉由超過濾、透析、酒精沉澱或逆相色層層析法處理，得到活性集中的抗消化性潰瘍萃取物。

在上述的方法中，超過濾是指經分子量篩(molecular weight cut off)1000或3000之超過濾濾膜過濾，以除去小分子的步驟。透析是指經分子量篩500之透析膜透析，以除去小分子的步驟。酒精沉澱是指經50%~100%酒精沉澱處理，並過濾取酒精可溶解的部分。通過逆相色層層析管柱的步驟是指，將濾液通過逆相聚芳香化合物樹脂(polyaromatic resin)之色層層析管柱，例如，Diaion HP-20(Sigma公司，產品編號：I-3605)，以分離純化花旗參之活性成份。

根據本發明，以各種方法萃取花旗參，均可得到活性集中的抗消化性潰瘍萃取物，並且可將此萃取物添加生理上可接受的賦型劑或載體，以作為抗消化性潰瘍之醫藥組成物。在此之前及之後所使用的名詞"消化性潰瘍"是指胃潰瘍及/或十二指腸潰瘍。

為了讓本發明之上述和其他目的、特徵及優點能更明顯易懂，下文特舉出較佳實施例，作詳細的說明如下。以下的實施例，是有關於花旗參萃取的實驗設計與抗消化性潰瘍之藥理活性評估的結果，但這些實施例僅為本發明之舉例說明，而並非用以限定本發明之範圍。

實施例1



五、發明說明 (6)

將200克的花旗參之根切片，加入2000毫升的去離子水加熱迴流沸騰1小時，將煎煮液以第200號篩(篩孔0.074毫米)過濾，此為第一次濾液。再加2000毫升的去離子水於藥材殘體中，加熱迴流沸騰30分鐘，將煎煮液過濾，此為第二次濾液，將兩次濾液合併，此為總萃取液。

將上述之總萃取液以10,000轉/分鐘(rpm)離心30分鐘，以除去微細殘渣與澱粉碎屑，並取出上清液。

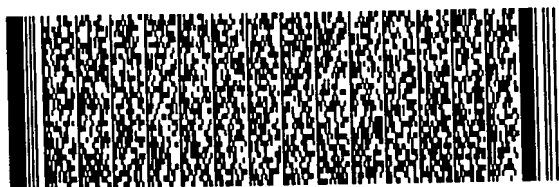
將上清液通過分子量篩1000的超過濾濾膜(molecular weight cut off 1000; Amicon, 型號S1Y1)，濾掉分子量小於1000道耳吞(Da)的物質，將分子量大於1000 Da的部分減壓濃縮得萃取物I。

將分子量小於1000 Da的濾液濃縮至乾，再加入90%的酒精水溶液溶解，過濾取酒精可溶解的部分加入上述萃取物I中，再經減壓濃縮得萃取物II。

實施例2

將實施例1中之離心上清液通過分子量篩3000的超過濾濾膜(Amicon, 型號S1Y3)，濾掉分子量小於3000 Da的物質，將分子量大於3000 Da的部分減壓濃縮得萃取物III。

將分子量小於3000 Da的濾液通過填充Diaion HP-20(Sigma公司，產品編號：I-3605)的色層層析管柱，先以去離子水沖流至洗出液無色後，再以95%酒精沖流，收集酒精流洗液，減壓濃縮至乾後與上述萃取物III合併得萃取物IV。



五、發明說明 (7)

實施例3

將實施例1之離心上清液，裝入分子量篩為500 (molecular weight cut off 500) 之半透膜透析袋中 (Spectra/Por[®]，產品編號：131 057)，兩端以密封夾封口後，放入裝有去離子水的桶中，袋中上清液與桶中水的比例為1：10，在桶中放置攪拌棒，於4℃低溫中進行透析，每次20小時，共三次。取透析袋中溶液經減壓濃縮得透析萃取物。

實施例4

將100克花旗參切片，加入2000毫升的50%酒精水溶液加熱迴流沸騰1小時，將煎煮液以第200號篩過濾得第一次濾液。再加2000毫升的50%酒精水溶液於藥材殘體中，加熱迴流沸騰30分鐘，將煎煮液過濾，得第二次濾液，將兩次濾液合併，減壓濃縮得萃取物V。

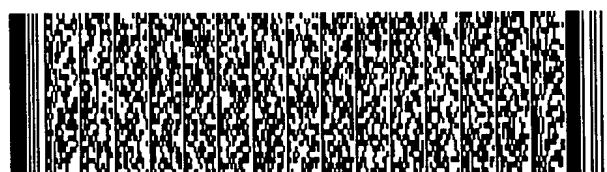
實施例5

抗消化性潰瘍之藥理活性評估

花旗參或其萃取物抗潰瘍活性係依據Robert等人及Takagi和Okabe的方法加以評估(Robert A. et. al. 1979, Gastroenterology 77:433-443; Takagi I. and Okabe S. 1968, Japan J. Pharmacol. 18:9-18)，其內容如下：

(1) 對壓力引起胃潰瘍的評估

將體重 150 ± 20 克的公鼠(Long Evans)禁食18小時



五、發明說明 (8)

後，口服投予待測樣品(控制組老鼠投予等體積溶媒)，投藥1小時後將老鼠放入固定架，並將部分浸入溫度22 ~ 24℃的水中4小時，隨後將老鼠犧牲取出胃，評估其胃部潰瘍程度。潰瘍分數以下列標準判斷：

0 = 未出血

1 = 點狀出血

2 = 輕微出血

3 = 嚴重出血且一半胃染血

4 = 非常嚴重出血且整個胃染血

表 1：花旗參萃取物對壓力引起老鼠胃潰瘍的影響

處理	劑量(克/公斤)	N	抑制比(%)
總萃取液	4	10	27.5±2.4
萃取物 I	4	10	42.5±3.6
萃取物 II	4	6	37.5±5.1
萃取物 III	4	10	42.5±3.6
萃取物 IV	4	6	51.2±3.8
萃取物 V	4	4	37.5±6.3

註1：花旗參萃取物對潰瘍的抑制百分比以下列方式計算：

$$[(\text{控制組分數}) - (\text{實驗組分數})] / (\text{控制組分數}) \times 100\%$$

註2：投藥劑量為每公斤老鼠體重投予含4克乾粉之萃取物。

註3：控制組老鼠的潰瘍分數皆為4分。

(2) 對酒精引起胃潰瘍的評估



五、發明說明 (9)

將體重 150 ± 20 克的公鼠(Long Evans)禁食18小時後，口服投予待測樣品(控制組老鼠投予等體積溶媒)，15分鐘後再口服投予1毫升的無水酒精，1小時後將老鼠犧牲取出胃，評估其胃部潰瘍程度。潰瘍分數以下列標準判斷：

0 = 未損傷

1 = 充血

2 = 1 或 2 處輕微損傷

3 = 多於 2 處輕微損傷或嚴重損傷

4 = 非常嚴重損傷

表 2：花旗參萃取物對酒精引起老鼠胃潰瘍的影響

處理	劑量(克/公斤)	N	抑制比(%)
總萃取物	4	10	50.0 ± 0.0
萃取物 I	4	10	50.0 ± 0.0
萃取物 II	4	6	45.8 ± 3.8
萃取物 III	4	10	40.0 ± 5.2
萃取物 IV	4	6	37.5 ± 7.8

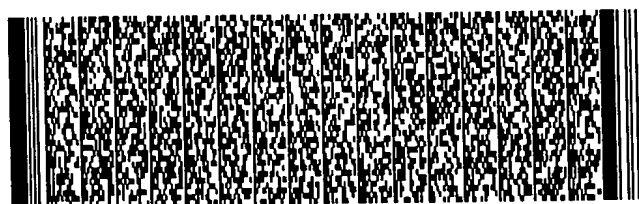
註1：花旗參萃取物對潰瘍的抑制百分比以下列方式計算：

$$[(\text{控制組分數}) - (\text{實驗組分數})] / (\text{控制組分數}) \times 100\%$$

註2：投藥劑量為每公斤老鼠體重投予含4克乾粉之萃取物。

註3：控制組老鼠的潰瘍分數皆為4分。

藥理評估結果如表1及表2所示，顯示本發明之花旗參萃取物對於壓力及酒精所引起的潰瘍具有良好的抑制效



五、發明說明 (10)

果，並且，根據本發明之方法，花旗參的水或酒精水溶液抽出物經由超過濾、透析、酒精沉澱或逆相色層層析法等方式處理後，皆具有良好的抗消化性潰瘍效果。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟悉此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍，當視後附之申請專利範圍而所界定者為準。



六、申請專利範圍

1. 一種用於預防及/或治療消化性潰瘍的醫藥組成物，包括：

(i) 一有效量的花旗參或其萃取物；以及

(ii) 其生理上或藥學上可接受的載體或賦型劑。

2. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組成物，其中該花旗參為 *Panax quinquefolium* L.。

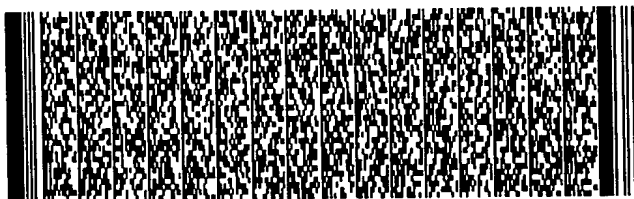
3. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為以極性度大於0.88之溶劑抽提之花旗參萃取物。

4. 如申請專利範圍第3項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為以10%~80%酒精溶液抽提之花旗參萃取物。

5. 如申請專利範圍第3項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為花旗參之水萃取物。

6. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為將該花旗參以水或10%~80%酒精水溶液萃取、離心、並以分子量篩1000的超過濾濾膜，濾掉分子量小於1000的物質，將分子量大於1000的部分濃縮所得之萃取物I。

7. 如申請專利範圍第6項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為將該花旗參以水或10%~80%酒精水溶液萃取、離心、並以分子量篩1000的超過濾濾膜過濾，將分子量小於1000的濾液濃縮至乾，再加入50~95%的酒精水溶液溶解，過濾取酒精可溶解的部分加入如申請專利範圍第6項之萃取物I中，再經濃縮所得之萃取物II。



六、申請專利範圍

萃取物為將該花旗參以水或10%~80%酒精水溶液萃取、離心、並以分子量篩3000的超過濾濾膜，濾掉分子量小於3000的物質，將分子量大於3000的部分濃縮所得之萃取物III。

9. 如申請專利範圍第8項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為將該花旗參以水或10%~80%酒精水溶液萃取、離心、並以分子量篩3000的超過濾濾膜過濾，將分子量小於3000的濾液通過一逆相色層層析管柱，以95%酒精沖流，收集酒精流洗液，濃縮至乾後與如申請專利範圍第8項之萃取物III合併所得之萃取物IV。

10. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組成物，其中該萃取物為將該花旗參以30~90%酒精水溶液加熱迴流沸騰，並將煎煮液篩過濾，濃縮所得之萃取物V。

11. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥組成物，其中該消化性潰瘍為胃潰瘍或十二指腸潰瘍。

12. 一種具有抗消化性潰瘍活性之花旗參萃取物之製造方法，包括下列步驟：

(a) 將花旗參以極性度大於0.88的溶劑萃取，得一萃取物；

(b) 將該萃取物過濾，以得一濾液；以及

(c) 將該濾液離心取上清液。

13. 如申請專利範圍第12項所述之方法，更包括將該上清液超過濾的步驟。

14. 如申請專利範圍第13項所述之方法，其中該超過



六、申請專利範圍

濾步驟係指經分子量篩1000或3000之超過濾濾膜過濾以除去小分子。

15. 如申請專利範圍第12項所述之方法，更包括將該上清液透析的步驟。

16. 如申請專利範圍第15項所述之方法，其中該透析步驟係指經分子量篩500之透析膜透析以除去小分子。

17. 如申請專利範圍第12項所述之方法，更包括將該上清液以酒精沉澱，並取溶於該酒精部分的萃取物之步驟。

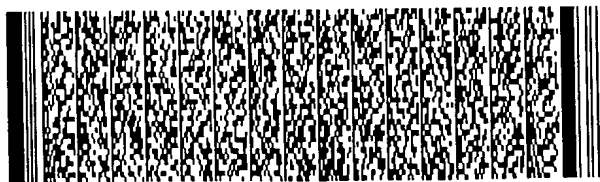
18. 如申請專利範圍第17項所述之方法，其中該酒精沉澱步驟係指經50%~100%酒精沉澱之處理。

19. 如申請專利範圍第12項所述之方法，更包括將該上清液通過一逆相色層層析管柱的步驟。

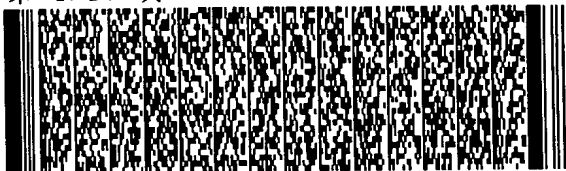
20. 如申請專利範圍第19項所述之方法，其中該逆相色層層析管柱為逆相聚芳香化合物樹脂色層層析管柱。

21. 如申請專利範圍第12項所述之方法，其中步驟(a)之該萃取物為以10%~80%酒精溶液抽提之花旗參萃取物。

22. 如申請專利範圍第12項所述之方法，其中步驟(a)之該萃取物為花旗參之水萃取物。



第 1/17 頁



第 2/17 頁



第 3/17 頁



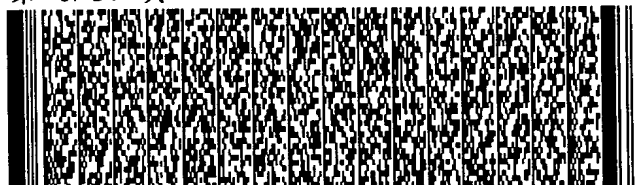
第 5/17 頁



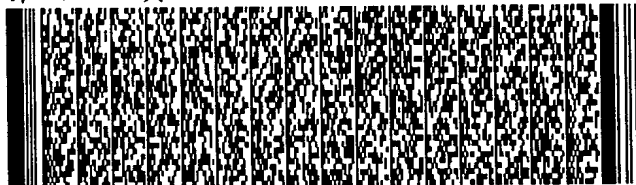
第 5/17 頁



第 6/17 頁



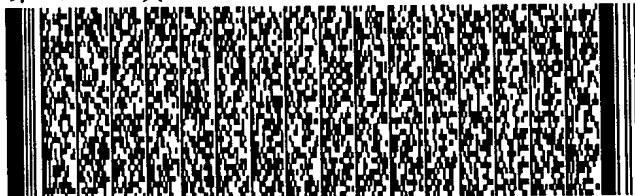
第 6/17 頁



第 7/17 頁



第 7/17 頁



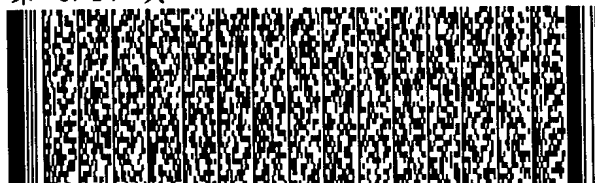
第 8/17 頁



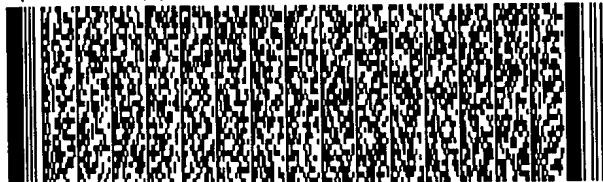
第 8/17 頁



第 9/17 頁



第 9/17 頁



第 10/17 頁



第 10/17 頁



第 11/17 頁



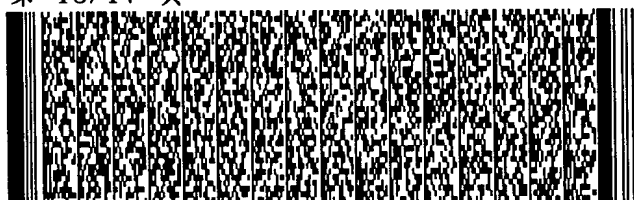
第 11/17 頁



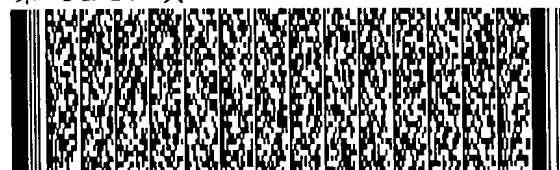
第 12/17 頁



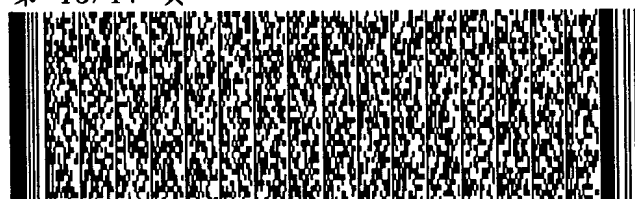
第 13/17 頁



第 14/17 頁



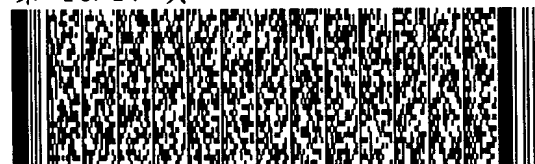
第 15/17 頁



第 16/17 頁



第 16/17 頁



第 17/17 頁

